



团 体 标 准

T/CSBM 0058—2025

含可降解微粒类面部软组织植入剂体内降解速率和胶原再生性能评价方法

Test method for evaluation of the biodegradation and collagen
regeneration of biodegradable particulate facial soft tissue fillers

2025-09-16 发布

2026-03-01 实施

中国生物材料学会 发 布
中国标准出版社 出 版

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国生物材料学会提出。

本文件由中国生物材料学会标准工作委员会归口。

本文件起草单位：华东医药股份有限公司、北京大学深圳研究院、欣可丽美学(上海)医疗科技有限公司、爱美客技术发展股份有限公司、深圳市迈捷生命科学有限公司、深圳市药品检验研究院(深圳市医疗器械检测中心)、南方科技大学、柔脉医疗(深圳)有限公司、国药集团医疗器械研究院有限公司。

本文件主要起草人：赖琛、王书晗、甄珍、张中兴、王延明、宋平平、杨婷、张堃、赫童、王世炜、张建光、臧德跃、王巧莉、肖忆楠、蒋兴宇、张俊睿、成诗宇。

引 言

随着经济发展和技术进步,医疗美容的需求大幅增加,医用生物材料被大量应用。目前,聚己内酯(polycaprolactone, PCL)、左旋聚乳酸(poly-L-lactic acid, PLLA)、羟基磷灰石(calcium hydroxyapatite, CaHA)等能够诱导胶原和纤维生成的再生型可降解微粒复合填充材料开始临床应用并逐渐占领注射微整形美容市场。这类可降解填充剂通常在6个月至5年内被人体吸收,以达到更持久的美容改善效果。但是现行的标准体系中,还未建立此类软组织植入剂的有效性和降解速率进行评价的方法。

胶原的再生就是与皮肤原有胶原的结构和功能相似的新胶原在体内形成的过程。皮肤中胶原的重要功能之一是力学支撑,胶原纤维排列所形成的网络结构决定这个功能。研究胶原纤维网络的多尺度结构需要结合各种成像手段,本文件采用病理染色和光电技术,并结合通用图像软件,评价再生的胶原纤维网络结构特征。软组织填充剂里的微粒在刺激胶原再生的同时也会降解,不同理化特性的微粒降解的时间不同。本文件采用影像和化学的方法,评价不同特性的微粒在体内的降解时间。

含可降解微粒类面部软组织植入剂体内降解速率和胶原再生性能评价方法

1 范围

本文件描述了可降解微粒类面部软组织植入剂产品在动物试验中的降解速率和胶原再生性能的评价方法。

本文件适用于可降解无机非金属材料、可降解合成高分子和/或天然高分子材料基面部软组织植入剂。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

- GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分:风险管理过程中的评价与试验
- GB/T 16886.6 医疗器械生物学评价 第6部分:植入后局部反应试验
- YY/T 0511 多孔生物陶瓷体内降解和成骨性能评价试验方法
- YY/T 1899 可吸收医疗器械植入后组织病理学样本制备与评价方法
- 中华人民共和国药典(2025年版)四部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

面部软组织植入剂 facial soft tissue implants

预期用于注射到真皮层、皮下组织和/或骨膜处,以填充增加组织容积为目的的材料。

3.2

微粒 microparticle

形状呈球形、类球形或不规则形小于 1 000 μm 的各类颗粒。

[来源:《中华人民共和国药典》(2025年版)四部,有修改]

3.3

再生 regeneration

与正常组织、器官和(或)其结构和功能相似的新生组织、器官在体内的形成过程。

[来源:YY/T 1445—2016, 3.6]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

GPC:凝胶渗透色谱(Gel Permeation Chromatography)

Micro-CT:微型电子计算机断层扫描(Micro Computed Tomography)

PCL:聚己内酯(Polycaprolactone)

PLLA:左旋聚乳酸(Poly-L-Lactic Acid)

SHG:二次谐波成像(Second-Harmonic Generation)

PBS:磷酸盐缓冲盐水(Phosphate-Buffered Saline)

5 总体要求

本文件使用者应按照 GB/T 16886.1 的要求,在做本文件所述的体内评价前,进行材料和/或器械的相关生物学评价。

注 1: 对于特定的产品,本文件中所建议的某些方法可能不完全适用时,根据技术发展现状,结合国内外相关指南进行个案分析。

注 2: 动物模型结果并不一定能完全预示人体使用结果,所以需谨慎解释其在人体的适用性。

6 试验设计

6.1 试验动物

6.1.1 通则(含要求)

可降解材料的再生性能评价主要通过植入试验来观察,应根据试验样品注射的体积、试验周期、植入材料的降解时间、动物寿命,以及种属间的生物反应差异等因素选择试验动物。按照 GB/T 16886.6 的方法进行试验。

6.1.2 兔和大鼠模型

与大型动物(如猪)相比,兔和大鼠模型通常更为经济。兔和大鼠皮肤比人类要薄,浅层筋膜更疏松,植入剂更容易弥散,并且浅层筋膜部位血管较少。兔和大鼠模型适于评价生物相容性、材料配方及植入物基本设计筛选等。

6.1.3 豚鼠模型

豚鼠的表皮和真皮均在正常人体皮肤厚度范围之内,一般生理指标以及血液学和血液化学成分等方面也与人相近,各层结构与人类皮肤组织一致,不过真皮中无汗腺。豚鼠背部可用作植入物评价部位。

6.1.4 猪模型

猪皮肤分层、各层厚度、真皮和表皮连接方式、真皮和表皮中细胞分布、胞外基质的排列结构均与人类皮肤相似;猪皮肤中多种抗原与人类抗血清具有交叉反应,且分布与人类皮肤接近。猪皮肤与人体皮肤结构特性非常相似,适宜作植入物评价模型。

6.2 植入方式

植入方式优先模拟临床使用,软组织植入剂常见的植入方式为皮下植入。如果临床上产品植入骨膜层,可以考虑动物实验采用皮下植入或者顶骨注射模式。在研究材料体内降解时,如果材料容易弥散,为防止材料的弥散,也可以采用动物背部造囊袋的模型。

兔背部造囊袋操作方法:兔背部剃毛裸露,于背部中线作一长约 2 cm 纵切口,向两侧背部皮下分离形成囊袋,囊的底部距皮肤切口应为 10 mm 以上,用合适的器具(如钝针)将材料植入囊袋中。每个囊内

放入一个植入物,植入物之间应不能互相接触。

小型动物(如大鼠、豚鼠或兔)模型每种材料的每一植入期采用至少 3 只动物和足够的植入部位,每一植入期总数达到 10 个试验样品和 10 个对照组。

大型动物(如猪)模型每种材料的每一植入期采用至少 2 只动物和足够的植入部位,每一植入期总数达到 10 个试验样品和 10 个对照组。

6.3 试验周期

对于可降解材料,试验周期应与临床相关植入位点试验产品预期降解时间相关。一般体内降解需根据安全性和有效性研究的需求设定试验周期,可根据体外降解试验评估产品的降解时间,以确定观察期,其观察期至少设置 3 个时间点:没有或仅有少量降解、降解过程中、组织反应达到稳定状态或植入部位产品几乎完全消失。

7 结果观察与评价

7.1 植入物的切取和标本制备

按 YY/T 1899 采集及制作标本。

注:顶骨注射的样品,将植入物与顶骨骨组织完整包埋在一起。

7.2 胶原再生评价

7.2.1 胶原再生的定性分析和评价

7.2.1.1 组织病理学通过病理切片的不同染色方法来分别评价炎症反应、新生血管形成、新生胶原纤维形态和分布等情况。

7.2.1.2 组织切片应连续切片后染色,以便于评估组织质量、胶原分布和形态、材料的分散性。顶骨注射的样品,应将植入物与顶骨骨组织完整包埋在一起,可以脱钙处理,也可以不脱钙。不脱钙硬组织切片的制备方法按 YY/T 0511。

7.2.1.3 胶原染色包括但不限于 Masson 染色、五色染色、天狼猩红染色、VG 染色((苦味酸-品红染色)法和 Herovici 胶原染色等。

7.2.1.4 产品配方、微粒特性、材料降解产物等会干扰染色结果,应给予正确的评估,以排除非特异性染色造成的干扰。

7.2.1.5 纤维状的胶原蛋白是高度各向异性的,由胶原三螺旋重复结构紧密排列,这些结构高度极化,因而能产生内源性 SHG 信号。SHG 信号的偏振依赖性可以用来研究组织内结构蛋白的排列取向。通过胶原的 SHG 可以分析胶原的形态和排列。

7.2.2 新生胶原纤维网络结构的分析

采用通用图像分析系统对材料周围胶原的排列取向进行分析。材料周围的胶原纤维形态通常可以使用 SHG 照片、偏振光显微镜或其他特殊染色方法获得。对不同来源的胶原图像进行分析,获得胶原纤维的排列、角度取向和尺寸、形态等参数,详见附录 B。

7.2.3 胶原再生的定量评价和分析

7.2.3.1 病理染色结果及成分分析依据染色试剂盒说明书。

7.2.3.2 SHG 中绿色荧光部分为胶原。

7.2.3.3 按 YY/T 0511,采用通用图像分析系统(CurvAlignV5.0 Beta、Fiji image J、Image pro plus),按公

式(1)计算胶原再生率。

$$\text{RNCF} = \frac{\text{NCFV}}{\text{OFS}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

RNCF ——胶原再生率；

NCFV ——病理切片中微粒间隙新生胶原量；

OFS ——病理切片中植入剂横截面积。

7.2.3.4 每一植入期至少随机选择放大倍数相同的 5 张视野进行观察和分析计算。

7.3 降解速率评价

7.3.1 一般要求

7.3.1.1 对降解性能的评价,综合目测观察、影像学观察、组织病理切片以及组织样本中分离出的残留植入物进行材料表征,比如微粒或者微球粒径,分子量及其分布等。

7.3.1.2 按 YY/T 1899 和 YY/T 0511,降解时间试验周期应与临床相关植入位点试验产品预期降解时间相关。其观察期至少设置 3 个时间点:没有或仅有少量降解、降解过程中、组织反应达到稳定状态或植入部位产品几乎完全消失。可酌情选择 2 周、4 周、13 周、26 周、52 周或者更长时间为观察期。

7.3.2 影像学检测

7.3.2.1 概述

Micro-CT、CT 和 B 超等成像技术均需要对受试动物进行麻醉,但需要注意避免出现动物麻醉死亡,不建议在相邻较短的时间反复麻醉检测。选取的成像部位可通过触摸或事前标记的方式,优先选择受试动物皮下材料最集中的部位进行检测。成像手段是否适用也与材料特性相关,根据具体材料择优选取。按 YY/T 1899 运用合适图像分析系统进行分析,测量植入物的剩余直径/面积/数量等半定量分析植入物剩余总量,以植入初始时的直径/面积/数量等为初始量,按公式(2)计算植入剂降解率。

$$A = (1 - \frac{B}{C}) \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

A ——植入剂降解率；

B ——植入剂剩余量；

C ——植入剂初始量。

7.3.2.2 高频超声检测材料降解

高频超声用于检测材料在组织内的形态、尺寸等情况。根据动物模型的大小和植入部位,选择合适的频率,通过分析接收到的皮肤回声信号,判断植入物的尺寸形态变化,该方法对高交联度的高分子植入剂(如透明质酸钠凝胶)的敏感性和特异性较高。

7.3.2.3 Micro-CT/CT 扫描检测材料降解

Micro-CT/CT 扫描可以分析植入剂的大小、形貌、密度以及材料的完整性,判断在体内降解的情况,范围可根据动物模型植入部位而定。一般,头部 5 mm~8 mm 采用层面扫描,其他部位采用螺旋扫描。此方法对无机非金属材料植入剂(如羟基磷灰石微粒)的敏感性和特异性较高。

7.3.3 化学法分析降解性能结果评价

- 7.3.3.1 对于无法用影像学检测出植入剂在体内形态的材料,可以采用化学法研究材料的体内降解。
- 7.3.3.2 采用皮下囊袋实验植入模型,将材料植入囊袋中,目测观察每一植入物及周围的材料面积的变化情况。评价方法可按 GB/T 16886.9 和 YY/T 1899。
- 7.3.3.3 切取包裹材料的组织,采用酶解法,将组织酶解,离心提取材料。按附录 A 反复清洁后,用 GPC 测试提取的材料分子量。通过分子量的变化得到材料降解曲线。
- 7.3.3.4 聚酯类微粒(如 PLLA、PCL)的降解过程遵循本体腐蚀/自催化机理,降解动力学方程可以表示为公式(3)。

$$\frac{dC_{\text{end}}}{dt} = K' C_{\text{ester}} C_w C_{\text{end}} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

C_{end} —— t 时间内未降解植入剂基团的浓度;

t —— 植入时间;

K' —— 降解速率常数;

C_{ester} —— 植入剂中酯基基团浓度;

C_w —— 水浓度。

8 统计分析

采用适宜的统计学方法评价试验结果,并对空白对照组、试验组结果进行综合分析评估。

附 录 A

(规范性)

微粒植入剂的提取方法

A.1 仪器设备

均质机、恒温摇床、超声分散仪、旋转黏度仪、高速离心机、冻干机、GPC。

A.2 消解液

PBS缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.2)、Tris-HCL(10 mmol/L, pH 7.4)、胰蛋白酶。

A.3 方法步骤

步骤如下：

- a) 配制胰蛋白酶溶液：取胰蛋白酶加入 Tris-HCl(10 mmol/L, pH 7.4)溶液中，形成质量分数为3%的胰蛋白酶溶液，混匀振荡器上振荡1 min，放入4℃恒温摇床中过夜；
- b) 将埋置有材料的动物组织取出，放入PBS溶液中清洗3遍；
- c) 用眼科手术剪将组织剪碎，大约2 mm；
- d) 在冰浴中，将组织高速匀浆，每30 s静置1 min；
- e) 在浆料中加入胰蛋白酶溶液。在超声分散仪中超声分散，条件为：25 kHz, 250 W, 60 min；
- f) 离心提取沉淀，去离子水冲洗3遍，再离心提取沉淀；
- g) 将离心得到的沉淀冷冻干燥，获得白色粉末；
- h) 凝胶色谱法测量粉末分子量。

附录 B

(规范性)

胶原的二次谐波成像和纤维网络的微观结构分析

B.1 胶原的二次谐波成像

B.1.1 皮肤中胶原纤维等,在适当的飞秒激光激发下可产生稳定的内源性二次谐波信号。通常激发波长为 790 nm~900 nm, SHG 通道用绿色标定,接收波长范围为 388 nm~420 nm。

B.1.2 用于测试的石蜡切片厚度为 4 μm ~40 μm ,脱蜡,覆盖盖玻片。新鲜组织可以直接观测。

B.1.3 SHG 对胶原成像的敏感性和特异性都较高,建议使用 SHG 图像进行半定量分析。

B.2 新生胶原网络结构的力学参数分析

采用图像分析系统,对材料周围胶原的排列取向进行分析。材料周围的胶原纤维形态通常可以使用 SHG 成像照片、偏振光显微镜或其他特殊染色方法获得。基于 MATLAB 语言,CT-FIRE 首先使用曲线变换(CT)对图像进行去噪和增强纤维边缘,然后使用纤维跟踪算法(FIRE)形成单个纤维网络,包括纤维边界检测、纤维中心点识别、从中心点延伸纤维、去除短纤维和创建纤维网络的主要步骤,可以对不同来源的胶原图像进行分析,获得胶原的排列、角度取向和尺寸、形态等参数。

参 考 文 献

- [1] GB/T 16886.9 医疗器械生物学评价 第9部分:潜在降解产物的定性和定量框架
 - [2] GB/T 25140.1 外科植入物的取出与分析 第1部分:取出与处理
 - [3] YY/T 1445—2016 组织工程医疗器械产品 术语
 - [4] ASTM F561-05 Standard Practice for Retrieval and Analysis of Medical Devices, and Associated Tissues and Fluids
 - [5] ASTM F981-99 Standard Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone
 - [6] 药物非临床研究质量管理规范(国家食品药品监督管理总局令第34号)
 - [7] 中华人民共和国实验动物管理条例(2017年第三次修订版)
 - [8] 赵琛玉,李崇崇,孙雪,等.医疗美容类面部注射填充材料评价[J].组织工程与重建外科, 2023, 19, 517-524.
 - [9] 刘列,王新虎,左春光,等. B超对肢体软组织内非金属异物的诊断价值[J]. Journal of Practical Orthopaedics, 2007, 13, 124-125.
 - [10] Moradi A, Shafiq F, Robison T, et al. Multicenter evaluation of a topical antioxidant serum [J]. Journal of Cosmetic Dermatology, 2024, 23, 145-153.
 - [11] Bredfeldt JS, Liu YM, et al. Computational segmentation of collagen fibers from second-harmonic generation images of breast cancer [J]. Journal of Biomedical Optics, 2014, 19, 016007-1-016007-10.
 - [12] Liu YM, Keikhosravi A, Pehlke CA, et al. Fibrillar Collagen Quantification With Curvelet Transform Based Computational Methods [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020, 198, 1-14.
 - [13] 张子一,王明雪,刘志贺,等. 二次谐波在生物医学成像中的应用[J]. 中国激光, 2020, 47, 0207008-1-0207008-12.
 - [14] Jan De Boer, Clemens A. Van Blitterswijk, Jorge Alfredo Uquillas, Nusrat Malki, Tissue Engineering[M]. Third Edition. Elsevier, United Kingdom.
 - [15] 张继稳,顾景凯. 缓控释制剂药物动力学[M]. 北京:科学出版社.
-